

[Aus dem bakteriolog. Laboratorium der Heilstätten Belzig bei Berlin.]  
(Director: Prof. Dr. A. Möller.)

## Die Wirkung des Formalins auf die Milch und das Labferment.

Von

Dr. Ernst Löwenstein,  
Assistenzarzt der Heilstätten.

Die Veränderungen, welche die Eiweisskörper durch das Formaldehyd erfahren, sind zuerst von Blum (1) beschrieben worden, und zwar stellt er folgende Hauptmerkmale dieser „Methylenverbindungen der Albumine“ zusammen: „Fehlen jeder Gerinnbarkeit beim Sieden der Lösung; hohe Wasserlöslichkeit; Fällbarkeit durch Säuren, durch concentrirten Alkohol oder Aceton bei erhaltener Löslichkeit auf neuerlichen Wasserzusatz“.

Durch Bach (2) und Benedicenti (3) wurde bald eine Bestätigung dieser Beobachtung erbracht. Besonders Letzterer ergänzte sie in mehrfacher Richtung: „Er liess Gelatine, Fibrin, Blutserum, Casein und Eieralbumin längere Zeit mit Formaldehydlösung in Berührung und constatirte titrimetrisch eine Abnahme des Formaldehydgehaltes der Lösung, die ‚Formaldehydproteine‘ waren vom Ausgangsmaterial in wesentlichen Punkten verschieden, so wurde Gelatine gehärtet und unlöslich, Blutserum gallertartig, Fibrin und Casein verloren ihre Quellbarkeit und wurden ebenso wie das Eiereiweiss unverdaulich. Durch Erhitzen im Dampfstrom wurde das Formaldehyd abgespalten und die Producte gewannen ihre ursprünglichen Eigenschaften zurück.“

Durch den Vorschlag v. Behring's, das Formaldehyd als Conservirungsmittel der Milch zu verwenden, wurde die Frage acut, in welcher für uns wahrnehmbaren Weise die Eiweisskörper der Milch durch das Formalin beeinflusst würden.

Bereits 1895 hatten S. Rideal (4) und E. J. Bevan (5) den Versuch gemacht, die Formalinmilch hygienisch zu verwerthen. Der letztere Autor macht gleichzeitig die interessante Angabe, dass die formalinirte Milch nach einigen Tagen eine Gewichtszunahme der Trockensubstanz aufweist, die wahrscheinlich von einer Umwandlung des Milchzuckers in Galaktose herrührt; auch Rohrzucker scheint sich in Dextrose umzuwandeln. In der That haben neuere Untersuchungen (Tollens, Lobry de Bruyer und Ekerstein) erwiesen, dass die Einwirkung von Formaldehyd auf die Constitution der verschiedensten Zuckerarten von grossem Einfluss sein kann. Th. Weigle und S. Merkel bestätigten, dass eine Conservirung der Milch durch den Geschmack und Geruch nicht wahrnehmbarer Formaldehydmengen sicher erreicht wird; aber dieselben erbrachten auch den Nachweis, dass das Casein der Milch durch Formaldehyd verändert wird. Und zwar soll die Veränderung eine derart tiefgreifende sein, dass die Gerber'sche Methode der Fettbestimmung nicht mehr brauchbar ist, da das Casein dann nicht mehr in der Mischung Schwefelsäure-Essigsäure löslich sei. Die Verdauung durch Pepsin erfahre zwar keine völlige Hemmung, aber doch sicher eine Verzögerung. Das Casein werde aus der Formalinmilch dickflockig und voluminös gefällt, weshalb eine formalinhaltige Milch bei der Ernährung der Kinder nicht in Verwendung kommen dürfe.

Die Befunde von Weigle und Merkel erfuhren eine Einschränkung durch Muraközy. Die Beobachtungen dieser Autoren bestätigen sich zwar bei Zusatz grösserer Formaldehydmengen (etwa 0.5 Volum-Procent auf reinen Aldehyd berechnet), aber die zu Conservierungszwecken ausreichenden Mengen liegen nach diesem Autor unter den Dosen Formaldehyd, welche eine solche Constitutionsveränderung bewirken können, doch macht auch M. die höchst bemerkenswerthe Beobachtung, dass die Wirkung des Formaldehyds auf die Eiweisskörper bei längerem Stehen zunimmt.

Auf die Frage, wie sich die „Formaldehydproteine“ gegenüber den Verdauungsfermenten verhalten, hatte schon Blum in seiner ersten Publikation hingewiesen. Nach Benedicenti sollen, wie schon oben erwähnt, die Formaldehydverbindungen aller von ihm untersuchten Eiweisskörper, unter denen sich auch Casein befand, weder durch Pepsin noch durch Trypsin angegriffen werden.

Die anderen Beobachter wie Weigle und Merkel, Mabery und Goldsmith, Lepierre haben sich nur mit der Pepsinverdauung beschäftigt und hier eine mehr oder minder grosse Verzögerung der Pepsinwirkung durch Formaldehyd gefunden.

In äusserst gründlicher und umfassender Weise ist dann diese Frage von Schwarz unter Hofmeister's Leitung im Strassburger physiologisch-

chemischen Institut näher studirt worden. Diese schönen Untersuchungen ergaben, dass bei Anwesenheit von überschüssigem Formaldehyd Trypsin überhaupt nicht zur Wirkung kam; die Pepsinwirkung war zwar gehemmt, doch nicht völlig aufgehoben. Aber auch die Eiweisspräparate (Schwarz verwendete Serumalbumin), bei denen kein freies Aldehyd mehr nachweisbar war, zeigten dem Trypsin gegenüber eine fast absolute Resistenz.

Auf Grund entsprechender Versuche kam Schwarz zu folgenden Schlüssen: „Die Trypsinverdauung wird durch Formaldehyd gehemmt oder völlig aufgehoben, durch Acetaldehyd beeinträchtigt. Die Unangreifbarkeit der Aldehydeiweissverbindungen für Trypsin hängt aber nicht von diesem Umstande ab, da die Spuren Aldehyd, welche bei der Verdauung von solchen Verbindungen nach und nach frei werden, nicht zur totalen Aufhebung der Trypsinwirkung genügen. Vielmehr scheint durch die Methylenisirung bezw. Aethylenisirung der Angriffspunkt für das Trypsin besetzt zu sein, so dass es nicht mehr einwirken kann. Aus der That- sache, dass die Pepsinverdauung erhalten bleibt, lässt sich vermuthen, dass entweder der Angriff des Eiweissmoleküls durch Pepsin an anderer Stelle erfolgt als durch Trypsin oder dass bei der Pepsinverdauung die Salzsäure die besetzten Stellen durch Aldehydabspaltung wieder frei macht“.

Auf dieser Anschauung fussend, sucht nun vorliegende Arbeit Veränderungen in der Milch nachzuweisen, erzielt durch Formalinmengen, welche bei der praktischen Verwendung des Formalin als Milchconservierungsmittel in Betracht kämen, denn in den vorausgehenden Arbeiten sind ausschliesslich grosse Formaldehydmengen berücksichtigt worden.

Den nahe liegendsten Weg, um chemisch vielleicht nicht erschliessbare Veränderungen aufzudecken, bot das Verhalten einer solchen Formalinmilch gegenüber dem Labferment, zumal bereits durch Bliss und Novy die Angabe gemacht worden war, dass Lab auf Casein, das mit Formaldehyd behandelt worden war, nicht mehr gerinnend wirkt.

Zu diesem Behufe wurde Labpulver (Witte) verwandt; dasselbe wurde in 10 procent. Kochsalzlösung gelöst und die 1 pro mill. Lösung nach 24 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur filtrirt; 0.001<sup>cem</sup> von dieser klaren Standendlösung genügte, um 5<sup>cem</sup> Milch in 4 Stunden zur Gerinnung zu bringen. Die Labbestimmung nach Morgenroth, wie sie auch von Fuld und Korschum anerkannt worden war, war aus äusseren Gründen nicht anwendbar, sondern die Milchproben wurden einfach in den Brutschrank gestellt.

Die Versuchsanordnung war folgende: Von einer Milchprobe wurden eine grosse Anzahl Reagensröhrchen beschickt und gleichzeitig mit steigenden Mengen des Schering'schen Formalin vermischt. Dann

wurde das Lab zugesetzt, indem die Dauer des Contactes immer variiert wurde. Ausserdem kam auch jedes Concentrationsverhältniss zwischen Milch und Formalin gleichzeitig drei Mal zum Versuch, indem auf eventuelle Unterschiede geachtet wurde, welche beim Zusetzen der 300-, 30- und 3fachen Minimaldosis des Labs doch möglich waren. Bereits jetzt sei vorausgeschickt, dass der Labmenge — allem Anschein nach — nur insofern eine Rolle zukam, als sie die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflusste, nur in wenigen Fällen gab die 300fache Labdosis einen feineren Hinweis auf noch nicht völlig methylenisiertes Casein. Dass bei kurzer Einwirkungsdauer die Unterschiede auffallend sind, ist damit zu erklären, dass die Wirkung der 3fachen Labdosis erst nach 3 bis 4 Stunden in Erscheinung tritt, so dass bei hohen Formalinconcentrationen inzwischen die Wirkung des Formalins einsetzt.

Tabelle I. Sofortiger Labzusatz.

5 <sup>cem</sup> Milch + Formalin- verhältniss auf reines Aldehyd bezogen	300fache Labdosis			30fache Labdosis			3fache Labdosis		
	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>
1:250	0	+	+	0	0	0	0	0	0
1:500	+	+		0	+		0	+	
1:850	+	+		+			0	+	
1:1250	+			+			0	+	
1:2500	+			+			0	+	
1:5000	+			+			0	+	
1:8500	+			+			0	+	
1:12500	+			+			0	+	
1:25000	+			+			0	+	
Controle I	+			+			0	+	
„ II	+			+			0	+	
„ III	+			+			0	+	

Tabelle II. Labzusatz nach 2 Stunden.

1:250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:850	0	+		0	+		0	0	0
1:1250	0	+		0	+		0	0	0
1:2500	+			+			0	+	
1:5000	+			+			0	+	
1:8500	+			+			0	+	
1:12500	+			+			0	+	
1:25000	+			+			0	+	
Controle I	+			+			0	+	
„ II	+			+			0	+	
„ III	+			+			0	+	

0 bedeutet keine Labung. + bedeutet Labung. Beobachtungszeit = Stunden.

Tabelle III. Labzusatz nach 6 Stunden.

5 ccm Milch + Formalin- verhältniss auf reines Aldehyd bezogen	300fache Labdosis			30fache Labdosis			3fache Labdosis		
	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>
1:250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:850	0	0	+	0	0	+	0	0	0
1:1250	0	+		0	0	+	0	0	0
1:2500	+?	+		0	+		0	0	+
1:5000	+			0	+		0	0	+
1:8500	+			+			0	+	
1:12500	+			+			0	+	
1:25000	+			+			0	+	
Controle I	+			+			0	+	
„ II	+			+			0	+	
„ III	+			+			0	+	

Tabelle IV. Labzusatz nach 24 Stunden.

1:250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:850	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1250	0	+?	+	0	+?	+	0	0	+?
1:2500	0	+		0	+		0	0	0
1:5000	+			+			0	0	0
1:8500	+			+			0	+	
1:12500	+			+			0	+	
1:25000	+			+			0	+	
Controle I	+			+			0	+	
„ II	+			+			0	+	
„ III	+			+			0	+	

Tabelle V. Labzusatz nach 48 Stunden.

1:250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:850	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1250	0	0	+?	0	0	0	0	0	0
1:2500	0	+		0	+		0	+?	+?
1:5000	+			0	+		0	0	+?
1:8500	+			0	+		0	0	+
1:12500	+			+			0	+	
1:25000	+			+			0	+	
Controle I	+			+			0	+	
„ II	+			+			0	+	
„ III	+			+			0	+	

Tabelle VI. Labzusatz nach 96 Stunden.

Formalinverhältniss	300fache Labdosis			30fache Labdosis			3fache Labdosis		
	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	6 <sup>h</sup>
1:250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:850	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:1250	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:2500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1:5000	0	0	+	0	0	0	0	0	0
1:12500	} s p o n t a n g e r o n n e n .								
1:25000									

Verfolgt man das Verhalten der Formalinmilch der 3fachen Minimaldosis des Labs gegenüber, welche wohl die Veränderungen des Caseins am feinsten wieder giebt, so resultirt folgende Uebersichtstabelle.

Die 3fache Labdosis erzeugt Gerinnung in 4 Stunden.

Verhältniss zwischen Formalin und Milch	Dauer der Einwirkung					
	sofortiger Labzusatz	nach 2 <sup>h</sup>	nach 6 <sup>h</sup>	nach 24 <sup>h</sup>	nach 48 <sup>h</sup>	nach 96 <sup>h</sup>
1:500	+	0	0	0	0	0
1:5000	+	+	+	0	0	0
1:8500	+	+	+	+	+	+
1:12500	+	+	+	+	+	+

Die Resultate der vorausgehenden Tabellen lassen sich also kurz dahin zusammenfassen. Die Veränderungen, welche die Milch durch den Formaldehyd erfährt, sind um so umfangreicher, je länger die Einwirkung des Formaldehyds dauert.

Wird Lab und Formalin gleichzeitig zur Milch zugesetzt, so tritt noch bei einem Verhältniss von 1:250 (d. h. 0.05<sup>cem</sup> Schering's Formalin auf 5<sup>cem</sup> Milch) Gerinnung auf, in den nächsten 6 Stunden beginnen bereits wesentliche Verschiebungen, nach einer 24stündigen Dauer des Contactes ist der Gerinnungspunkt bereits bis zu 1:1250 hinaufgerückt, nach 48 Stunden tritt noch bei 1:2500, nach 96 Stunden nur noch bei 1:5000 Gerinnung auf. Höhere Formalinverdünnungen waren nicht verwendbar, da stets Spontangerinnung nach 96 bis 120 Stunden eingetreten war.

Jedenfalls geht aus diesen Versuchen hervor, dass durch einen 4 Tage dauernden Contact selbst bei dem Verhältniss 1:5000

die Milch derart verändert wird, dass sie nicht mehr mit Lab reagirt.

Es ist also zweifellos, dass mit der Dauer des Contactes zwischen Milch und Formalin auch die Constitutionsveränderung des Milcheiweisses vorschreitet. Schon deshalb kann der Möglichkeit, dass das Ausbleiben der Gerinnung auf eine Veränderung des Labs durch das Formaldehyd zurückgeführt werden könne, keine grosse Wahrscheinlichkeit zugeschrieben werden. Die entsprechenden Versuche haben diese Voraussetzung als gerechtfertigt erscheinen lassen.

Schon v. Freudenreich hat in seiner Arbeit „Beiträge zur Kenntniss des Labfermentes“ darauf hingewiesen, dass zum Zwecke der Sterilhaltung des Labs wohl eine 1 procent. Formaldehydlösung in Verwendung kommen darf, ohne dass eine wesentliche Abschwächung der Labwirkung zu befürchten wäre. Meine Beobachtungen haben ebenfalls ergeben, dass das Labferment gegenüber dem Schering'schen Formalin ausserordentlich resistent ist.

1<sup>cem</sup> der oben erwähnten Standardlösung wurde mit füllenden Mengen Formalin versetzt und zwar kamen fünf Eprouvetten in den Versuch.

- |    |                  |           |   |                      |          |
|----|------------------|-----------|---|----------------------|----------|
| 1. | 1 <sup>cem</sup> | Lablösung | + | 1 <sup>cem</sup>     | Formalin |
| 2. | 1                | „         | „ | + 0.5 <sup>cem</sup> | „        |
| 3. | 1                | „         | „ | + 0.3                | „        |
| 4. | 1                | „         | „ | + 0.2                | „        |
| 5. | 1                | „         | „ | + 0.1                | „        |

Der Labwerth jeder einzelnen Eprouvette wurde sofort nach 8, 24 und 72 Stunden austiterirt, indem immer 0.1<sup>cem</sup> der Stammeprouvette weiter verdünnt wurde; es zeigte sich, dass selbst nach 72 Stunden auch beim Versuch Nr. 2 (1<sup>cem</sup> Lablösung + 0.5<sup>cem</sup> Formalin) fast kein Verlust der Labwirkung zu beobachten war.

Hingegen ist die Labwirkung völlig aufgehoben, wenn das Labpulver längere Zeit einer Formaldehydatmosphäre ausgesetzt war. Dieser auffallende Befund, den E. v. Freudenreich bereits 1898 publicirt hatte, beruht völlig auf Richtigkeit: 1<sup>grm</sup> Witte'sches Labpulver wurde durch 24 Stunden unter einer Glasglocke in einer Formaldehydatmosphäre bei Zimmertemperatur gehalten. Das trockene Pulver war feucht und krümelig geworden, an der Glasschale angebacken. 0.1<sup>grm</sup> davon in 100<sup>cem</sup> 10 procent. Kochsalzlösung aufgeschwemmt; die Lösung ging leicht vor sich, die Lösung selbst hatte aber alle Labkraft verloren.

Für die anderen Fermente liegen Versuche von C. L. Bliss und F. S. Novy vor, so wird nach diesen Autoren Papain leicht, Trypsin und Amylopsin schwerer zerstört. Letztere Fermente vertragen schwache

Formaldehydconcentrationen bei Zimmertemperatur, sind aber bei 40° C. vielmehr für Formaldehyd empfindlich. Pepsin und Diastase hingegen können bis zu 5 Procent Formaldehyd bei Wochen langer Einwirkung ohne Verlust ihrer Wirksamkeit vertragen.

Während Diastaselösungen ohne Formaldehyd durch Bakterien in kurzer Zeit unwirksam werden, soll bei Formalinzusatz sich die enzymatische Wirksamkeit unbegrenzt erhalten. Diesen Beobachtungen wurde aber von S. Sawamura widersprochen; denn derselbe fand die Wirksamkeit eines käuflichen Pepsinpräparates, das sich durch 24 Stunden in einer 10 procent. Formaldehydlösung befunden hatte, völlig erloschen. Die differenten Resultate dieser Forscher und auch eine ähnliche Angabe Pekelharing's führt S. auf den Umstand zurück, dass diese Autoren verdünnten Formaldehyd verwendeten und diesen auf das Pepsin nicht in neutraler, sondern in salzfreier Lösung einwirken liessen.

Zur Entscheidung der Frage, ob die Wirksamkeit eines Fermentes durch Formaldehyd zerstört wird, wird es sich empfehlen, den Formaldehyd in Gasform einwirken zu lassen, da auf diese Weise störende Momente ausgeschlossen sind. Die Incongruenz des Versuchsausfall bei Verwendung des Formalin in Lösung und in Gasform fordert dazu auf, dieselben Versuche bei anderen Fermenten anzustellen, es dürften die bestehenden Unklarheiten auf diesem Wege behoben werden.

#### Schlüsse:

1. Das Formaldehyd verändert die Milch auch in dem Sinne, dass sie mit Lab nicht mehr reagirt. Der Grad der Veränderung ist in erster Linie von der Dauer der gegenseitigen Einwirkung und erst in zweiter Linie von der Formalinmenge abhängig.

2. Diese Veränderungen der Milch treten schon bei den geringen Formaldehydmengen auf, welche für die Desinfectionspraxis in Betracht kämen.

3. Das Formaldehyd in Lösung vermag die Kochsalzlösung des Lab nicht unwirksam zu machen, während Formaldehyd in Gasform das Labpulver seiner Wirkung beraubt.

---



### Nachtrag.

Zufällig finde ich eine kurze Notiz über eine Epidemie einer Dermatitisform in dem Centralasyl zu London.<sup>1</sup>

Dr. Monckton Copemann hatte bereits 1895 und 1896 in mehreren anderen Hospitälern die gleichen Erscheinungen beobachtet. Als nun im Hendon Hospital dieselbe „Epidemie skin disease“ ausbrach, an welcher 68 Personen erkrankten und 2 starben —, da schienen alle Umstände auf die Milch als alleinige Ursache hinzudeuten. Es war allgemein aufgefallen, dass die Milch trotz des ungünstigen Wetters keine sichtbaren Zeichen der Unbrauchbarkeit zeigte, und dieses Moment hatte den Gedanken nahe gelegt, dass die Milch mit einem Desinficiens versetzt sei. Im Gegensatz zu der Aussage des Lieferanten ergab die chemische Untersuchung einen Formalingehalt der Milch, den Dr. Monckton Copemann als alleinige Ursache der „Epidemie skin“ ansieht.

---

<sup>1</sup> *The British Medical Journal.* 18. Juni 1904.

### Litteratur-Verzeichniss.

1. Blum, Ueber eine neue Classe von Verbindungen der Eiweisskörper. *Zeitschrift für physiol. Chemie.* Bd. XXII. S. 127—131.
  2. Bach, *Archives des sciences physiqu. Anatur.* 1897. T. III. p. 88. — Cit. nach Schwarz.
  3. Benedicenti, Ueber Verbindungen der Eiweisskörper mit Aldehyden. *Zeitschrift für physiol. Chemie.* Bd. XXXI. S. 461—478. — Cit. nach Schwarz.
  4. S. Rideal, Formalin als Milchconservierungsmittel. *The Analyst.* Vol. XX. p. 157—158. — Cit. nach *Jahrbuch für Thierchemie.*
  5. E. J. Bevan, Ueber Formalin als Conservierungsmittel für Milch. *The Analyst.* Vol. XX. p. 152—154. — Cit. nach Maly. *Ebenda.* 1895.
  6. Th. Weigle und S. Merkel, Die Einwirkung des Formalins auf Milch. *Forschungsberichte über Lebensmittel und ihre Beziehungen zur Hygiene.* 1895.
  7. Muraközy, Ueber die Wirkung von Formalin auf die Milch. Cit. nach *Jahrbuch für Thierchemie.* 1898. Bd. XXVIII. S. 255.
  8. Mabery und Goldsmith. Citirt nach Schwarz, a. a. O.
  9. Lepierre. Citirt nach Schwarz, a. a. O.
  10. Leo Schwarz, Ueber Verbindungen der Eiweisskörper mit Aldehyden. *Zeitschrift für physiol. Chemie.* 1901. Bd. XXXI.
  11. Morgenroth, Zur Kenntniss des Labenzym u. seiner Antikörper. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI u. XXVII.
  12. Fuld, Die Wirkung des Labs auf die Milch. Hofmeister's *Beiträge.* Bd. II. Hft. 4.
  13. Korschun, Ueber Lab und Antilab. *Zeitschrift für physiol. Chemie.* 1902. Bd. XXXVI.
  14. E. v. Freudenreich, *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. II. Bd. IV.
  15. C. L. Bliss und Novy, *Journ. of experim. Med.* Bd. IV. — *Centralblatt für Physiologie.* Bd. XIII. Note 144.
  16. S. Sawamura. Citirt nach *Jahrbuch für Thierchemie.* 1902. Bd. XXXII.
  17. Pekelharing, *Zeitschrift für physiol. Chemie.* Bd. XXXV.
-